SUR LA PRÉSENCE ET LA LOCALISATION, DANS LES GRAINES D'UN CERTAIN NOMBRE DE POMACÉES, DES PRINCIPES FOURNISSANT L'ACIDE CYANHYDRIQUE; par M. L. LUTZ.

On sait qu'un certain nombre de plantes appartenant à la famille des Amygdalées renferment dans leurs organes deux principes qui, en réagissant l'un sur l'autre en présence de l'eau, engendrent l'acide cyanhydrique. Ces deux principes sont : l'un un ferment, l'émulsine, l'autre un glucoside, l'amygdaline.

Ce dernier corps est susceptible de se combiner à lui-même, l'une des molécules jouant le rôle d'acide, l'autre celui de base, pour donner par leur union un nouveau composé, un amygdalate d'amygdaline ou laurocérasine, qui se rencontre dans le Laurier-Cerise et se comporte, vis-à-vis de l'émulsine, de la même façon que l'amygdaline.

Ces deux corps existent, dans les plantes qui les renferment, dans des cellules différentes. Vient-on, par dilacération des tissus, à mettre en présence l'émulsine, l'amygdaline et de l'eau, le ferment réagit sur le glucoside et le dédouble en glucose, acide cyanhydrique et essence d'amandes amères, suivant la réaction :

$$C^{20}H^{27}AzO^{11} + 2H^{2}O = 2C^{6}H^{12}O^{6} + CAzH + C^{7}H^{6}O.$$

La propriété de renfermer les principes générateurs de l'acide cyanhydrique n'est pas uniquement limitée aux Amygdalées; nombre de plantes appartenant à des familles différentes les renferment également.

Kobert (1) en donne une énumération très complète. Il dit entre autres : « Chez les Amygdalées et les Pomacées se rencontrent » l'amygdaline ou des substances semblables à l'amygdaline, en » partie dans les graines, en partie dans les feuilles et en partie » dans l'écorce. Il est universellement connu que les graines de » Pommes (*Pirus Malus*), de Cerises (*Prunus Cerasus*), d'Abri» cots (*Prunus Armeniaca*), d'Amandes amères (*Amygdalus com*» *munis* var. *amara*), de Pêches (*Prunus Persica*), etc., ont une

(1) *Lehrbuch der Intoxicationen*, p. 510 et suiv.

» saveur amère et, par contusion, tendent à donner de l'acide » cyanhydrique ».

La présence des principes générateurs de l'acide cyanhydrique était donc ainsi signalée dans les graines de Pommier, mais d'une façon plutôt incidente, de telle sorte que la question méritait d'être reprise et surtout étendue à toute la famille des Pomacées. Cette famille étant extrêmement voisine des Amygdalées, il était en effet permis de supposer que, puisque certaines Amygdalées et une Pomacée contenaient dans leurs graines l'émulsine et l'amygdaline, d'autres Pomacées pourraient participer à cette propriété.

Voici l'exposé des recherches que j'ai entreprises pour l'étude de ce sujet :

Méthodes suivies pour rechercher la présence des principes générateurs de l'acide cyanhydrique. — Pour m'assurer de la présence des principes générateurs de l'acide cyanhydrique dans les graines des diverses Pomacées, j'ai opéré en suivant les procédés classiques :

1° On prend une certaine quantité de graines, on les pile avec soin dans un mortier, en présence d'une petite quantité d'eau, et on examine s'il se développe une odeur d'amandes amères sensible à l'odorat.

2° La bouillie obtenue est délayée dans une plus grande quantité d'eau, puis introduite dans une cornue de verre et distillée avec précaution à cause de la mousse abondante qui se produit au début de l'opération. On recueille les premières parties du liquide passant à la distillation.

Sur ce liquide on fait les réactions suivantes :

a. Une partie, prélevée, est traitée par une solution d'azotate d'argent. Il se produit un précipité blanc, soluble dans l'acide azotique concentré et bouillant si la liqueur contient de l'acide cyanhydrique (1).

b. Une autre portion est additionnée d'une goutte de solution de potasse caustique, puis d'une solution saturée d'acide picrique et portée à l'ébullition. La présence de l'acide cyanhydrique se

(1) Cette réaction ne se produit pas avec les liqueurs ne contenant que des traces d'acide cyanhydrique.

révèle par une coloration rouge sang (Réaction de l'isopurpurate).

c. Une troisième portion est additionnée de sulfhydrate d'ammoniaque jusqu'à ce que la liqueur paraisse légèrement jaune, puis d'un peu d'ammoniaque. On chauffe jusqu'à décoloration en remplaçant l'eau qui s'évapore. L'acide cyanhydrique se transforme ainsi en sulfocyanure d'ammonium. Il suffit alors d'aciduler par une trace d'acide chlorhydrique et d'ajouter une goutte de perchlorure de fer pour voir se développer une coloration rouge sang (Réaction du sulfocyanure).

Ces deux dernières réactions, celle de l'isopurpurate surtout, sont caractéristiques.

Recherche des principes générateurs de l'acide cyanhydrique dans les graines des diverses Pomacées.

Genre **Malus**. — J'ai opéré sur des graines de *Malus communis* de diverses provenances. Ces graines, pilées avec de l'eau, développent avec intensité l'odeur d'amandes amères. Le liquide distillé donne les diverses réactions signalées plus haut. Les graines de *Malus communis* contiennent donc les principes producteurs de l'acide cyanhydrique.

Genre **Pirus**. — J'ai opéré de même sur des graines de *Pirus communis* de diverses provenances. Par broiement avec l'eau, il ne s'est pas dégagé d'odeur d'amandes amères, et le liquide distillé n'a pas donné les réactions de l'acide cyanhydrique.

Il était alors nécessaire de chercher si ce fait n'était lié qu'à l'absence d'un des deux principes producteurs.

Pour cela, j'ai broyé en présence de l'eau un certain nombre de graines de Poirier avec quelques gouttes d'une solution récente d'amygdaline à 1 pour 100. Je n'ai obtenu ni l'odeur d'amandes amères, ni les réactions de l'acide cyanhydrique sur le liquide distillé. Donc les graines de Poirier ne renferment pas d'émulsine.

J'ai répété la même opération en remplaçant la solution d'amygdaline par une solution récente d'émulsine à 5 pour 100. Même résultat négatif. Donc les graines de Poirier ne contiennent pas d'amygdaline.

Ainsi les principes producteurs de l'acide cyanhydrique manquent tous deux dans les graines de Poirier.

Genre **Cydonia**. — J'ai étudié le *Cydonia vulgaris*. Les graines, broyées avec de l'eau, dégagent l'odeur d'amandes amères, et le liquide distillé présente les réactions de l'acide cyanhydrique.

Les graines de *Cydonia vulgaris* renferment donc de l'amygdaline et de l'émulsine.

Les graines d'une autre espèce, cultivée dans nos pays à titre ornemental, mais dont les fruits sont susceptibles d'arriver à maturité dans les environs de Paris et de recevoir alors quelques applications économiques, le *Cydonia japonica*, contiennent également les deux principes générateurs de l'acide cyanhydrique.

Genre **Cratægus**. — J'ai poursuivi mes recherches sur les deux espèces : *C. oxyacantha* et *C. Azarolus*.

Les graines de ces deux plantes, broyées avec de l'eau, ne m'ont donné, ni l'une ni l'autre, les réactions de l'acide cyanhydrique.

Même résultat négatif si l'on broie les graines successivement en présence d'amygdaline et d'émulsine.

Ces deux espèces du genre *Cratægus* ne renferment donc ni l'un ni l'autre de ces composés.

Genre **Mespilus**. — La même absence des deux principes doit être signalée chez le *M. germanica*.

Genre **Sorbus**. — En raison de la saison un peu avancée à laquelle j'ai opéré mes recherches, je n'ai pu me procurer de fruits que de deux espèces : *S. Aria* et *S. aucuparia*.

Les graines de ces deux Sorbiers, broyées avec de l'eau et distillées, présentent les réactions de l'acide cyanhydrique.

En résumé : chez les Pomacées il y a lieu de signaler la présence de l'amygdaline et de l'émulsine dans les graines des plantes appartenant aux genres *Malus*, *Cydonia* et *Sorbus*, et leur absence simultanée dans les graines des plantes des genres *Pirus*, *Cratægus* et *Mespilus*.

Quantité d'acide cyanhydrique susceptible d'être fournie par les graines de Pomacées.

Pour avoir une idée de la quantité d'acide cyanhydrique susceptible d'être produite par contusion des graines de Pomacées

renfermant l'amygdaline et l'émulsine, je me suis adressé aux graines de *Sorbus aucuparia* que j'ai pu me procurer en assez grande quantité.

15 grammes de graines furent pilées soigneusement, délayées dans de l'eau distillée et soumises à la distillation dans une cornue de verre. J'ai recueilli 20 centim. cubes de liquide que j'ai dosé par la méthode de Liebig (solution titrée d'azotate d'argent donnant en liqueur alcaline un cyanure double d'argent et d'alcali soluble, puis précipitant lorsque la moitié de l'acide cyanhydrique est entré en combinaison).

Pour obtenir la précipitation de la solution d'argent, il m'a fallu employer 18 div. d'une burette contenant une solution 1/20 normale d'azotate d'argent.

Comme 10 div. (1 centim. cube) correspondent à $2^{mgr},7$ de CAzH; 18 div. correspondent à $\frac{2,7 \times 18}{10} = 4^{mgr},86$.

Ce qui fait pour 100 grammes de graines de *Sorbus aucuparia* $\frac{4,86 \times 100}{15} = 32^{mgr}$ de CAzH.

Localisation de l'émulsine et de l'amygdaline dans les graines de Pomacées.

I. — Émulsine.

La localisation de l'émulsine dans les graines de Pomacées est assez délicate.

Si l'on se reporte au travail magistral de M. Guignard sur la localisation de ce principe dans les amandes et le Laurier-Cerise (1), on voit que les réactions préconisées par l'auteur sont les suivantes :

1° Action à chaud du réactif de Millon;

2° Sulfate de cuivre et potasse (Réaction de Piotrowski);

3° Acide chlorhydrique et orcine à chaud.

Ces réactions localisent très bien l'émulsine dans le Laurier-Cerise, qui en renferme beaucoup dans un petit nombre de cellules; il n'en est plus de même avec les graines de Pomacées qui

(1) Guignard, *Sur la localisation dans les amandes et le Laurier-Cerise des principes qui fournissent l'acide cyanhydrique* (*Journal de pharmacie et chimie*, 1890).

en renferment relativement très peu. Les deux dernières réactions ne donnent aucun résultat précis et ne permettent pas une localisation certaine. Il en est de même pour la plupart des autres réactifs des protéides et des ferments : liqueur de Fehling, acide chlorhydrique concentré et chaud, acide azotique à chaud, etc.

Seule, l'action du réactif de Millon permet d'obtenir des résultats précis, et encore faut-il avoir soin, et ceci est très important : 1° de n'employer que le réactif dilué au 1/4 ou au 1/5 à l'aide d'eau acidulée par l'acide azotique ; 2° de porter avec la plus extrême lenteur les coupes, disposées sur une lame dans une goutte de réactif, à une température voisine de l'ébullition ; on doit mettre *au moins* 7 à 8 minutes pour arriver à ce résultat.

On voit peu à peu la coupe tout entière prendre une coloration d'abord rose très pâle qui va s'accentuant. Quand la coloration rose est devenue bien uniforme sur toute la préparation, on laisse refroidir et on examine. Les cellules à émulsine ont leur contenu coloré en brun pâle, les autres étant faiblement colorées en rose.

J'ai localisé l'émulsine dans les graines de toutes les Pomacées que l'essai préliminaire m'avait montré en contenir : *Malus communis, Cydonia vulgaris* et *C. japonica*, *Sorbus Aria* et *S. aucuparia.*

La localisation est la même dans toutes les graines :

a. *Cotylédons.* — L'émulsine se rencontre dans un grand nombre de cellules éparses dans le parenchyme des cotylédons, mais particulièrement abondantes au voisinage des faisceaux libéro-ligneux. L'endoderme des faisceaux en contient également. L'émulsine paraît manquer presque totalement dans les cellules palissadiques.

b. *Tigelle, gemmule, radicule.* — Des coupes de ces différentes parties de la plantule, traitées par le réactif de Millon, ne montrent en aucune partie le précipité brun caractéristique de l'émulsine.

Cette absence d'émulsine est bien réelle, car, si l'on détache avec précaution, au moyen d'une pince à dissection, ces diverses pièces des cotylédons et qu'on les broie avec de l'eau, on ne dégage pas d'odeur d'amandes amères, non plus qu'en les broyant en présence d'une solution d'amygdaline.

II. — Amygdaline.

La localisation précise des cellules à amygdaline est impossible. On ne peut pas songer à dédoubler le glucoside au moyen d'un acide dilué et à chaud, puis à chercher le glucose par la liqueur de Fehling : cette réaction comporte trop de causes d'erreur.

La seule réaction susceptible d'être employée est la suivante, analogue à l'une de celles employées par M. Guignard pour la localisation du myronate de potassium (1) :

On traite les coupes par l'éther, pour enlever la matière grasse; on les laisse sécher, puis on les fait macérer à 50 degrés pendant environ une heure dans une solution récente d'émulsine; finalement on recherche, au moyen de l'orcanette acétique, l'essence d'amandes amères qui a pris naissance pendant la réaction.

Malheureusement cette essence est en quantité trop faible pour que la réaction possède une netteté suffisante.

Cependant, si l'on s'en tient aux réactions grossières, on peut constater :

1° Que l'amygdaline se trouve dans les cotylédons, puisque ceux-ci renferment de l'émulsine et que par contusion ils donnent l'odeur d'amandes amères;

2° Qu'elle se trouve également dans la tigelle, la gemmule et la radicule, car, détachées soigneusement des cotylédons et broyées avec une solution récente d'émulsine, ces parties de la plantule dégagent avec intensité l'odeur d'amandes amères.

La germination est-elle une cause de migration de l'amygdaline et de l'émulsine ?

J'ai étudié cette question sur des germinations de *Malus communis*. — Sur une graine dont la germination est avancée à tel point que la jeune plante montre déjà quatre feuilles post-cotylédonaires, on peut constater avec facilité que la localisation des principes est restée ce qu'elle était dans la graine non germée : le ferment reste dans les cotylédons et est destiné à disparaître avec eux ou à ne passer dans la plante qu'après avoir subi des modifications lui enlevant sa nature et ses propriétés.

(1) Guignard, *Recherches sur la localisation des principes actifs des Crucifères* (*Journal de Botan. de Morot*, 1890).